烟夜蛾谷胱甘肽 S-转移酶基因的克隆、序列分析与表达

杨新影，李　亮，安世恒，罗梅浩，原国辉，郭线茹*
（河南农业大学植物保护学院，郑州 450002）

摘要：为探明谷胱甘肽 S-转移酶(GSTs)在昆虫嗅觉识别中的作用，本研究采用 RT-PCR 和 RACE 方法，从烟夜蛾 *Helicoverpa assulta* (Guenée)雄虫触角中克隆获得了 1 个 GSTs 基因的全长 cDNA 序列(GenBank 登录号为 EU289223)。将该基因推导的氨基酸序列与其他物种的 GSTs 进行同源性比对和系统发育分析，发现该蛋白属于昆虫特异性 Epsilon 家族成员，因此将该基因命名为 *HaGSTe1*。同时从烟夜蛾基因组 DNA 中克隆获得了该基因序列，发现序列中含有 5 个内含子，长度分别为 415，513，296，333 和 269 bp。利用半定量 RT-PCR 和实时荧光定量 PCR 方法对 *HaGSTe1* 在雌、雄虫不同组织的表达进行了定性和定量分析，结果显示，该基因在雌、雄虫的头部(去掉触角和喙)、触角、喙、胸、足、翅以及雌虫的腹部均有表达，并且在雄虫触角中的表达量最高，且显著高于雌虫触角，这种表达情况提示其可能与触角中性信息素及其他外源物质的分解有关。

关键词：烟夜蛾；谷胱甘肽 S-转移酶；基因克隆；半定量 RT-PCR；实时荧光定量 PCR
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2011)06-0648-09

Molecular cloning, sequence analysis and expression of a glutathione S-transferase gene from *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae)

YANG Xin-Ying, LI Liang, AN Shi-Heng, LUO Mei-Hao, YUAN Guo-Hui, GUO Xian-Ru* (College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In order to explore the function of glutathione S-transferases (GSTs) in olfactory recognition of insects, the full-length cDNA of a novel glutathione S-transferase gene was cloned from the antennae of *Helicoverpa assulta* by using RT-PCR and RACE methods (GenBank accession no. EU289223). Based on the sequence identity and the phylogenetic tree of the amino acids of GSTs in *H. assulta* and other species, the sequence obtained was found to belong to the Epsilon family, hence named as *HaGSTe1*. Genomic structure analysis of *HaGSTe1* revealed that *HaGSTe1* contained five introns with the length of 415, 513, 296, 333 and 269 bp, respectively. The qualitative and quantitative analyses of the expression of *HaGSTe1* in male and female moths were conducted using semi-quantitative RT-PCR and real-time PCR. The results showed that *HaGSTe1* transcript was clearly detected in the head (with antennae and proboscis removed), antenna, proboscis, thorax, legs, and wings of both male and female and abdomen of the female. *HaGSTe1* transcript was significantly more highly expressed in male antennae than in female antennae, suggesting that it may be involved with the decomposition of pheromones and other xenobiotics in the antenna.

Key words: *Helicoverpa assulta*; glutathione S-transferase; gene cloning; semi-quantitative PCR; real-time PCR

昆虫的嗅觉系统主要感知空气中的植物挥发性物质、异性个体释放的性信息素以及捕食者发出的气味物质等，因此，嗅觉系统的灵敏性和特异性对昆虫生存和繁殖起着重要作用。研究表明，昆虫对外界气味物质的识别包括对气味分子的结合、接受、把化学信号转化为电信号的信号传导及信号终

基金项目：河南省杰出青年科学基金项目(074100510013)
作者简介：杨新影，女，1986 年生，河南商丘人，硕士研究生，主要从事昆虫生态与分子生物学研究，E-mail：xxxxx112842@163.com
*通讯作者 Corresponding author, E-mail：guoxianru@126.com
收稿日期 Received：2010-10-22；接受日期 Accepted：2011-02-21

止等过程，由多种蛋白相互作用共同完成，其中气味分子与气味受体相互作用后的信号终止是信号传导过程中的关键一步。无论这些气味物质是有害的还是有益的，在昆虫体内必定存在某种机制来降解这些物质，以避免嗅觉系统受到持续刺激的伤害（王桂荣等，2003，2004；Merlin *et al.*，2005）。

气味分子的酶降解参与嗅觉识别中的信号终止（Merlin *et al.*，2005），目前已经发现了多种在昆虫触角中表达的气味降解酶（odorant degrading enzymes，ODEs），如谷胱甘肽 S-转移酶（glutathione S-transferases，GSTs）（Rogers *et al.*，1999）、细胞色素 P450（cytochrome P450）（Maïbèche-Coisne *et al.*，2002）、醛氧化酶（aldehyde oxidases，AOXs）（Pelletier *et al.*，2007）、酯酶（esterases）（Ishida and Leal，2008）等，其中 GSTs 是非常重要的一类。GSTs 活性首先在大鼠中发现（Booth *et al.*，1961），此后对非哺乳动物 GSTs 的研究报道越来越多，其中对昆虫 GSTs 的研究主要集中在其对杀虫剂的灭活和抗性方面，随着研究的深入，发现昆虫 GSTs 在气味降解中也起着重要作用。如在烟草天蛾 *Manduca sexta* 和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 触角中鉴定出的触角特异性的 GSTs，可能具有保护昆虫嗅觉系统免受有毒物质伤害和使醛类物质特别是性信息素信号终止的双重作用（Rogers *et al.*，1999；王桂荣等，2003）。

烟夜蛾 *Helicoverpa assulta* 是一种世界性害虫，主要危害烟草、辣椒等经济作物。近年来本研究小组在烟夜蛾对气味分子的结合、运输以及信号传导机制等方面开展了大量研究工作，先后克隆得到了普通气味结合蛋白 GOBP1 和 GOBP2；性信息素结合蛋白 PBP2 和 PBP3；G 蛋白 αq 亚基（*Gαq*）及气味受体 Or83b 等基因的序列（吴少英等，2005；巩中军等，2005；刘晓光等，2006；Qiao *et al.*，2008，2010；乔奇等，2008；李亮等，2009），并利用原位杂交和免疫组化方法研究了烟夜蛾 *Gαq* 和 *Or83b* 两个基因在触角内的表达情况，发现 *HassGαq* 在雄蛾触角中的表达部位是毛形感器和锥形感器的基部以及感器腔中，而 *HassOr83b* 在触角上很多毛形感器细胞中都有表达，因此我们认为 HassGαq 和 HassOr83b 在烟夜蛾嗅觉识别中具有特殊的作用（Qiao *et al.*，2008，2010）。本研究利用 RT-PCR 和 RACE 方法，从烟夜蛾雄虫触角中克隆获得了一个 GST 基因的完整 cDNA 序列，并从基因组 DNA 中克隆得到了该基因序列，在此基础上，利用半定量 RT-PCR 和实时定量 PCR 技术对其在不同组织的表达情况进行了研究，期望为进一步研究 GST 对气味物质分子的降解机制及烟夜蛾嗅觉识别中气味信号的终止机制提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试昆虫：烟夜蛾为河南农业大学昆虫学实验室饲养，温度为 26℃，光周期 16L∶8D，蛹期分雌、雄分别饲养。取烟夜蛾成虫触角、喙、头、胸、腹、足、翅各组织的材料，立即放入液氮中快速冷冻，然后置于 -80℃保存备用。

1.1.2　主要试剂：总 RNA 抽提试剂（RNAiso Reagent）、3′-Full RACE 试剂盒、5′-Full RACE 试剂盒、TaqDNA 聚合酶、DL2000 Marker、pMD19-T 载体、基因组 DNA 提取试剂盒（Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 3. 0）、反转录试剂盒（RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit）和 SYBR PrimeScript ™RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司；DNA 凝胶回收试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司，大肠杆菌 *Escherichia coli* JM-109 由本实验室保存。

1.2　总 RNA 和基因组 DNA 的提取

按照试剂使用说明，利用 RNAiso Reagent 试剂提取烟夜蛾成虫触角、喙、头、胸、腹、足、翅各组织的总 RNA，利用基因组 DNA 提取试剂盒提取触角中的基因组 DNA；雌、雄蛾触角和喙各取 50 对，其余组织各取 3 ~ 5 对。

1.3　引物的设计与合成

根据棉铃虫、烟草天蛾和家蚕 *Bombyx mori*（GenBank 登录号分别为 AY058242，AF133268 和 NM001043718）GSTs 的核苷酸序列，设计简并引物 GP1 和 GP2 用于 PCR 扩增。本研究所用引物及其用途见表 1，引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.4　RT-PCR 扩增烟夜蛾 GST 基因片断

根据反转录试剂盒说明，以雄虫触角总 RNA 为模板合成 cDNA 第一链，随后以合成的 cDNA 第一链为模板，利用 GP1 和 GP2 引物进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为：94℃变性 3 min；随后 40 个循环的扩增，扩增条件为 94℃ 1 min，60℃ 50 s，72℃ 1 min；最后 72℃ 10 min。

表 1 本实验设计合成的引物及其用途

Table 1 Primers and their use in the experiment

引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequence	扩增片段 Amplified fragment
GP1	TC(G/A)CACGATTCTGAC(G/C)TA(T/C)TTGGC	烟夜蛾 GST 基因 cDNA 片段 *HassGST* cDNA
GP2	TGGGTATTTGTTC(T/A)(C/G)GTC(G/A)(G/A)A(T/C)TTC	
G3OP	AGGACATCAAGAAGAGGGCAC	烟夜蛾 GST 基因 cDNA 3′末端 3′-end of *HassGST* cDNA
G3IP	TTCTTCGATTCCGCCATTCTATACACTAGGG	
G5OP	CCCTAGTGTATAGAATGGCGGAATC	烟夜蛾 GST 基因 cDNA 5′末端 5′-end of *HassGST* cDNA
G5IP	AGTGCCCTCTTCTTGATG	
GOP1	ATGGGTGTGAAACTATACACATTAG	烟夜蛾 GST 基因完整 ORF 以及从基因组 DNA 中扩增该基因
GOP2	TCACGAGTTTAAGAGTTTTGTTAC	*HassGST* cDNA ORF and DNA from genome
G3DP1	ATGAAGAGTACACCATACTGC	烟夜蛾 GST 基因 3′非编码区 3′ UTRs of *HassGST* cDNA
G3DP2	GTAATTTATTTCATTCCAAC	
G5DP1	GTGATTGACGAGACCTCTTGT	烟夜蛾 GST 基因 5′非编码区 5′ UTRs of *HassGST* cDNA
G5DP2	GATTAACGTCTATCTTCTCG	
GSP1	TGACAGTCGCACGATTCTG	烟夜蛾 GST 基因片断 *HassGST* gene fragment
GSP2	TTCAATAAGGTCCAAATGC	
NCP1	CCGCTGAAACTCCTTCGTGC	内参基因，烟夜蛾 18S rRNA 基因片断
NCP2	TGTCGGTCCGAAGACCTCAC	Reference genes, 18S rRNA gene fragment

1.5 基因克隆和序列测定

利用1%琼脂糖凝胶电泳对上述 PCR 产物进行分析，并纯化目的片段，基因克隆参照 Sambrook 等(2002)的方法进行。序列测定由大连宝生物工程有限公司完成。

1.6 3′RACE 和 5′RACE

为了获得烟夜蛾 GST 基因完整 cDNA 序列，根据上述获得的基因序列，设计合成基因特异性引物 G3OP 和 G3IP 并分别与 3′RACE 试剂盒中的 Outer Primer 和 Inner Primer 引物配对进行套式 PCR 扩增，设计合成基因特异性引物 G5OP 和 G5IP 分别与 5′RACE 试剂盒中的 Outer Primer 和 Inner Primer 引物配对也进行套式 PCR 扩增。3′RACE 和 5′RACE 反应条件参照试剂盒说明书进行。3′RACE 和 5′RACE 产物的电泳分析、基因克隆和序列测定方法同 1.5。

1.7 烟夜蛾 GST 基因完整 ORF 扩增

根据烟夜蛾 GST 基因的 cDNA 序列，设计 GOP1 和 GOP2 基因特异性引物进行序列验证。

1.8 基因结构分析

根据上述获得的烟夜蛾 GST 基因 cDNA 序列设计合成系列基因特异性引物(表 1)，其中 GOP1 与 GOP2 配对，G3DP1 与 G3DP2 配对，G5DP1 与 G5DP2 配对，以烟夜蛾基因组 DNA 为模板，分别对烟夜蛾 GST 基因的编码区、3′非编码区和 5′非编码区进行 PCR 扩增。对 PCR 产物进行克隆、而后测序和拼接获得烟夜蛾 GST 基因序列，并将该序列与烟夜蛾 GST 基因 cDNA 序列相比对，分析内含子的分布和大小。

1.9 序列分析

核苷酸序列分析采用 ChromasPro 软件，氨基酸序列分析采用生物信息学在线工具 http://www.expasy.org/tools/pi_tool.html，二级结构预测采用在线工具 http://scratch.proteomics.ics.uci.edu/，同源性比较采用 NCBI 中的 BLAST 工具，序列多重联配采用 ClustalW 和 Genedoc 软件，进化树构建运用 MAGE4.0 软件中的邻接法(NJ)，基因外显子和内含子的组成分析采用在线软件 http://pbil.univ-lyon1.fr/sim4.php。

1.10 烟夜蛾 GST 基因在不同组织中表达的定性分析

采用半定量 RT-PCR 方法检测烟夜蛾 GST 基因在各组织部位的表达情况(李亮等, 2009)。取成虫触角、喙、头、胸、腹、足、翅等组织各 2 μg 的总

基酸残基(图 3)，该基因在 GenBank 中登录号为 EU289223。利用生物信息学在线工具(http://www.expasy.org/tools/pi_tool.html)对氨基酸序列进行分析，结果表明，该蛋白的预测分子量为 24.8 kD，等电点为 7.76。二级结构预测发现烟夜蛾 GST 与其他物种 Epsilon 家族 GSTs 结构一样，在 N-端由 β-α-β-α-β-β-α 的结构基序组成，C-端主要有 5 个 α 螺旋构成(图 4)。序列同源性分析表明，在 N-端有一个保守的 Ser 位点，可能是 GSTs 的催化活性中心(Sheehan *et al*., 2001)；烟夜蛾 GST 与其他昆虫 Delta，Theta 和 Epsilon 家族成员的氨基酸序列一致性分别在 31%～38%，25%～29% 和 31%～82% 之间。系统发育分析表明，Delta，Theta 和 Epsilon 家族 GSTs 各自聚为独立的一支(图 5)。根据序列同源性和系统发育分析，该蛋白属昆虫特异性 Epsilon 家族 GSTs，并将其命名为 HaGSTe1。

```
                                              acagtgattgacga    14
                                                           >
gacctcttgtaaaatagttgcaatcagtcgttttgttgtggaattaaataataagcaaac    74
<1
ATGGGTGTGAAACTATACACATTAGACGCTAGCCCCCCTGCGCGCGCCGCCATGATGGCT   134
 M  G  V  K  L  Y  T  L  D  A  S  P  P  A  R  A  A  M  M  A     20
CTTGAAATATTCAATGTTCCCTTCGAGAAGATAGACGTTAATCTTGGTGAAGGGCAACAT   194
 L  E  I  F  N  V  P  F  E  K  I  D  V  N  L  G  E  G  Q  H     40
                     ><2
TTAACACCGGAATATCTAAAAAAAAATCCTATGCACGCAGTACCTGTACTAGAGGATGGG   254
 L  T  P  E  Y  L  K  K  N  P  M  H  A  V  P  V  L  E  D  G     60
                   ><3
AACCTAATTCTACATGACAGTCGCACGATTCTGACGTACTTGGCCGACACCTACAGAAAA   314
 N  L  I  L  H  D  S  R  T  I  L  T  Y  L  A  D  T  Y  R  K     80
GTTGACTCATGGTACCCAAAGGACATCAAGAAGAGGGCACTAGTTGACCAAAAACTATTC   374
 V  D  S  W  Y  P  K  D  I  K  K  R  A  L  V  D  Q  K  L  F    100
                                            ><4
TTCGATTCCGCCATTCTATACACTAGGGGCCGAAACATTACTTATTCCCTGATTATGGAA   434
 F  D  S  A  I  L  Y  T  R  G  R  N  I  T  Y  S  L  I  M  E    120
GGAGAGAAAACAAAAGAACAGAAGCATTTGGACCTTATTGAAGAAGCATACGGTTTCATG   494
 G  E  K  T  K  E  Q  K  H  L  D  L  I  E  E  A  Y  G  F  M    140
GAAGTGTTCCTCTCTCGCACCACCTATATCGCTGCAGACCACGTGACCATCGCTGATGTG   554
 E  V  F  L  S  R  T  T  Y  I  A  A  D  H  V  T  I  A  D  V    160
                                                         ><5
TCAGCCTTAAGTAGCATGTCATCCATGGTGAACTTACAGAAGTCCGACGAGAACAAATAC   614
 S  A  L  S  S  M  S  S  M  V  N  L  Q  K  S  D  E  N  K  Y    180
CCAAAAACTGCTGCTTGGTACAAGAAAATGAAGAGTACACCATACTGCAAAAAATACAAC   674
 P  K  T  A  A  W  Y  K  K  M  K  S  T  P  Y  C  K  K  Y  N    200
GACCACGGAGAAAAGGCTTTACTTGAACTAGTAACAAAACTCTTAAACTCGTGAttatat   734
 D  H  G  E  K  A  L  L  E  L  V  T  K  L  L  N  S  *          217
ctcaatcgtataagttcaagttatacctgaaaacgaaatatttattatttaaataacaat   794
tgtaagaagaaaaccgtcgctgaaaattggattgtaaaaaaatgttggaatgaaataaat   854
tactaagcattttataaaaaaaaaaa                                     880
```

图 3　烟夜蛾 GST 基因 cDNA 序列和推导的氨基酸序列

Fig. 3　The cDNA and deduced amino acid sequences of GST gene in *Helicoverpa assulta*

___：起始密码子 Start codon；*：终止密码子 Stop codon；═══：polyA 加尾信号 Polyadenylation signal domain；

> <：内含子插入位点 Sites of introns.

2.2.2 *HaGSTe1* 基因结构分析：将来源于基因组 DNA 的 GST 基因与该基因的 cDNA 序列进行比对，结果显示该基因有 5 个内含子，其中编码区包含 4 个内含子，5′端非编码区包含 1 个内含子。5 个内含子的长度分别为 415，513，296，333 和 269 bp，且富含 A-T 碱基(62.76%～73.61%)，起始密码子 ATG 位于第 2 个外显子的开端，终止密码子 TGA 位于第 6 个外显子内(图 6)。

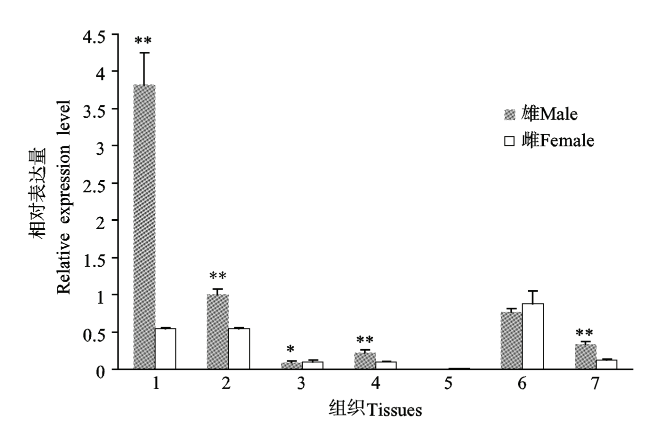


图 8　烟夜蛾不同组织 *HaGSTe1* 基因的实时荧光定量 PCR 结果分析

Fig. 8　Quantitative analysis of the real-time PCR products of *HaGSTe1* in different tissues of adult *Helicoverpa assulta*

雌、雄蛾相同组织基因表达量的差异显著性比较（*t* 测验），** $P \leqslant 0.01$，* $P \leqslant 0.05$。The significance analysis of *HaGSTe1* expression level between male and female in the same position was conducted (*t* test), ** $P \leqslant 0.01$, * $P \leqslant 0.05$. 1：触角 Antenna；2：喙 Proboscis；3：头（去掉触角和喙）Head with antennae and proboscis removed；4：胸 Thorax；5：腹 Abdomen；6：足 Legs；7：翅 Wings.

冈比亚按蚊 GSTs 基因一般有 1 ~ 2 个内含子，主要分布在 50 ~ 100 bp 的范围内（Ding *et al*., 2003）；而家蚕 GSTs 基因内含子数目明显增多，多数为 3 ~ 4 个内含子，27.3% 分布在 1 000 ~ 1 999 bp 的范围内（余泉友，2008）。本研究对 *HaGSTe1* 基因结构进行分析发现，该基因 CDS 区有 4 个内含子，长度在 269 ~ 513 bp 之间。不同昆虫间同源基因内含子数量和长度的差异可为分析昆虫的进化提供一些证据。

信号的终止是昆虫嗅觉识别过程中关键的步骤，在昆虫触角中已经鉴定出多种 ODEs，它们属于不同的家族。与 ORs 和 OBPs 相比，ODEs 的特异性最差，这可能与气味分子化学结构的多样性有关。根据在触角中表达的部位，可以将 ODEs 分为感器内细胞外可溶性 ODEs、细胞内 ODEs、膜结合 ODEs 和表皮 ODEs 4 类（Vogt *et al*., 2005；Merlin *et al*., 2007）。其中感器内的 ODEs 主要降解进入昆虫感器的气味分子，维持嗅觉神经对新刺激的反应，而表皮 ODEs 可能参与清除吸附在触角表面的性信息素和其他气味分子，以避免背景气味的干扰（Ferkovich *et al*., 1980；Vogt and Riddiford, 1981）。根据本研究获得的 *HaGSTe1* 全长基因结构及其在雌、雄虫不同组织的表达量情况，推测该基因编码的蛋白 HaGSTe1 具有降解性信息素或其他外源气味物质的功能，但尚需进一步做免疫定位研究，确定其表达的感器类型及其细胞类型，为分析 HaGSTe1 在烟夜蛾嗅觉识别中的功能提供更可靠的证据。

参 考 文 献（References）

Booth J, Boyland E, Sims P, 1961. An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione. *Biochem. J*., 79(3): 516 – 524.

Chelvanayagam G, Parker MW, Board PG, 2001. Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. *Chemico-Biological Interactions*, 133(1 – 3): 256 – 260.

Ding YC, Ortelli F, Rossiter LC, Hemingway J, Ranson H, 2003. The *Anopheles gambiae* glutathione transferase supergene family: annotation, phylogeny and expression profiles. *BMC Genomics*, 4(1): 35.

Ferkovich SM, van Essen F, Taylor TR, 1980. Hydrolysis of sex pheromone by antennal esterases of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Chem. Senses*, 5(1): 33 – 46.

Gong ZJ, Yuan GH, Guo XR, An SH, 2005. Cloning and sequencing of cDNA encoding general odorant binding protein II in the antenna of *Helicoverpa assulta* (Guenée) and its expression in *Escherichia coli*. *Acta Entomologica Sinica*, 48(1):18 – 23.［巩中军，原国辉，郭线茹，安世恒，2005. 烟实夜蛾触角普通气味结合蛋白 II cDNA 的克隆、序列分析及在大肠杆菌中的表达. 昆虫学报，48(1): 18 – 23］

Ishida Y, Leal WS, 2008. Chiral discrimination of the Japanese beetle sex pheromone and a behavioral antagonist by a pheromone-degrading enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(26): 9076 – 9080.

Li L, Yang WL, Guo XR, Luo MH, Yuan GH, Qiao Q, Fu XW, 2009. Cloning, sequence analysis and spatio-temporal expression of a pheromone binding protein 2 (PBP2) gene from *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 52(11): 1199 – 1205.［李亮，杨文玲，郭线茹，罗梅浩，原国辉，乔奇，付晓伟，2009. 烟夜蛾性信息素结合蛋白 2(PBP2) 基因的克隆、序列分析与时空表达. 昆虫学报，52(11): 1199 – 1205

Liu XG, An SH, Luo MH, Guo XR, Yuan GH, 2006. Cloning and sequencing of cDNA encoding pheromone binding protein 3 from the *Helicoverpa assulta* (Guenée) and its expression in *Escherichia coli*. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 733 – 739.［刘晓光，安世恒，罗梅浩，郭线茹，原国辉，2006. 烟实夜蛾信息素结合蛋白 3 cDNA 的克隆、序列分析与原核表达. 昆虫学报，49(5): 733 – 739］

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*, 25: 402 – 408.

Maïbèche-Coisne M, Jacquin-Joly E, François MC, Meillour PN, 2002. cDNA cloning of biotransformation enzymes belonging to the cytochrome P450 family in the antennae of the noctuid moth *Mamestra brassicae*. *Insect Mol. Biol*., 11(3): 273 – 281.

Maïbèche-Coisne M, Merlin C, François MC, Queguiner I, Porcheron P, Jacquin-Joly E, 2004. Putative odorant-degrading esterase cDNA from the moth *Mamestra brassicae*: cloning and expression patterns in male and female antennae. *Chem. Senses*, 29(5): 381 – 390.

Merlin C, François MC, Bozzolan F, Pelletier J, Jacquin-Joly E, Maïbèche-Coisne M, 2005. A new aldehyde oxidase selectively expressed in chemosensory organs of insects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 332(1): 4 – 10.

Merlin C, Rosell G, Carot-Sans G, François MC, Bozzolan F, Pelletier J, Jacquin-Joly E, Guerrero A, Maïbèche-Coisne M, 2007. Antennal esterase cDNAs from two pest moths, *Spodoptera littoralis* and *Sesamia nonagrioides*, potentially involved in odourant degradation. *Insect Mol. Biol.*, 16(1): 73 – 81.

Qiao Q, Li HC, Yuan GH, Guo XR, Luo MH, 2008. Gene cloning and expression analysis of G protein αq subunit from *Helicoverpa assulta* (Guenée). *Agricultural Sciences in China*, 7(2): 187 – 192.

Qiao Q, Li HC, Yuan GH, Guo XR, Luo MH, 2008. Preparation of the antiserum to HassGαq of *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) and its immunolocalization in the antenna. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1304 – 1308. [乔奇, 李海超, 原国辉, 郭线茹, 罗梅浩, 2008. 烟夜蛾 G 蛋白 αq 亚基(HassGαq)的抗血清制备及在触角中的免疫定位. 昆虫学报, 51(12): 1304 – 1308]

Qiao Q, Li HC, Yuan GH, Guo XR, Luo MH, 2010. Cloning and expression analysis of cDNA encoding Or83b-like receptor from *Helicoverpa assulta*. *Agricultural Sciences in China*, 9(7): 1001 – 1007.

Rogers ME, Jani MK, Vogt RG, 1999. An olfactory-specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.*, 202(12): 1625 – 1637.

Sawicki R, Singh SP, Mondal AK, Beneš H, Zimniak P, 2003. Cloning, expression and biochemical characterization of one Epsilon-class (GST-3) and ten Delta-class (GST-1) glutathione S-transferases from *Drosophila melanogaster*, and identification of additional nine members of the Epsilon class. *Biochem. J.*, 370: 661 – 669.

Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA, 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implication for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem. J.*, 360: 1 – 16.

Vogt RG, 2005. Molecular basis of pheromone detection in insects. In: Gilbert LI, Iatro K, Gill S eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology. Vol. 3, Endocrinology. Elsevier, London. 753 – 804.

Vogt RG, Riddiford LM, 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293(5828): 161 – 163.

Wang GR, Guo YY, Wu KM, 2003. Cloning of cDNA fragment of an antennal-specific gene in *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 11(1): 49 – 54. [王桂荣, 郭予元, 吴孔明, 2003. 一个棉铃虫触角特异表达基因 cDNA 片段的克隆. 农业生物技术学报, 11(1): 49 – 54]

Wang GR, Wu KM, Guo YY, 2004. Research advance on molecular mechanism of odors perception in insects. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 12(6): 720 – 726. [王桂荣, 吴孔明, 郭予元, 2004. 昆虫感受气味物质的分子机制研究进展. 农业生物技术学报, 12(6): 720 – 726]

Wu SY, Wang GR, Wu KM, Guo YY, Yuan GH, Guo XR, 2005. Molecular cloning and sequence analysis of genes encoding GOBP1 and PBP in the antenna of *Helicoverpa assulta* (Guenée). *Scientia Agricultura Sinica*, 38(9): 1817 – 1824. [吴少英, 王桂荣, 吴孔明, 郭予元, 原国辉, 郭线茹, 2005. 烟青虫气味结合蛋白基因的克隆与序列分析. 中国农业科学, 38(9): 1817 – 1824]

Yu QY, 2008. Study on the Glutathione S-transferase Superfamily in the Silkworm, *Bombyx mori*. PhD Dissertation, Southwest University, Chongqing. [余泉友, 2008. 家蚕谷胱甘肽-S-转移酶基因的功能研究. 重庆: 西南大学博士学位论文]

Yue LN, Yang YH, Wu SW, Wu YD, 2007. Cloning and mRNA expression levels of cytochrome P450 genes *CYP6AE12* and *CYP9A18* in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 50(3): 234 – 240. [岳丽娜, 杨亦桦, 武淑文, 吴益东, 2007. 棉铃虫 P450 基因 *CYP6AE*12 和 *CYP9A*18 的克隆与 mRNA 表达水平. 昆虫学报, 50(3): 234 – 240]

(责任编辑: 赵利辉)